

09/88, 698

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 09124652 A

(43) Date of publication of application: 13 . 05 . 97

(51) Int. Cl

C07D487/22  
A61K 31/40  
A61K 49/00  
G01N 33/50  
// A61N 5/06

(21) Application number: 07315710

(22) Date of filing: 30 . 10 . 95

(71) Applicant: TOYO HATSUKA KOGYO KK

(72) Inventor:  
SAKATA ISAO  
NAKAJIMA SUSUMU  
KOSHIMIZU KOICHI  
TAKADA HIROYUKI  
INUI YASUSHI

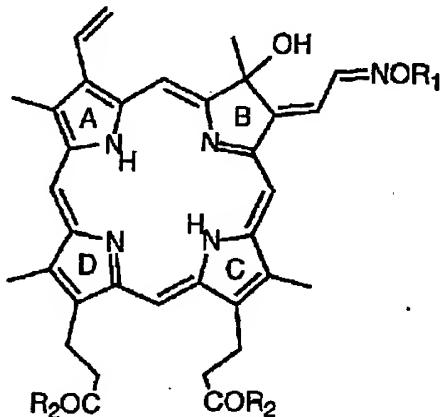
(54) PORPHYRIN DERIVATIVE AND USE THEREOF

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide the above compound having accumulation property to cancer cell, reactivity to external energy and destructing action on cancer cell, free from toxicity to normal cells and useful as an agent for the treatment or the diagnosis of cancer.

SOLUTION: This porphyrin compound is expressed by the formula [R<sub>1</sub> is CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> or CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>; R<sub>2</sub> is a residue produced by removing H from aspartic acid] (including position isomers obtained by exchanging the functional groups of the side chains on the rings A and B among four tetrapyrrole rings in the formula), e.g. 13, 17-bispropionylaspartic acid-3-ethenyl-7-hydroxy-8-methoxyiminoethylidene-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrin. The compound of the formula can be produced, e.g. by producing a chlorin derivative having corresponding aldehyde group, bonding an aspartic acid residue to the derivative and condensing the product to a hydroxylamine derivative.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO



**MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):**

|                        |   |
|------------------------|---|
| (19) 【発行国】             | (19)[ISSUING COUNTRY]                                       |
| 日本国特許庁 (J P)           | Japan Patent Office (JP)                                    |
| (12) 【公報種別】            | (12)[GAZETTE CATEGORY]                                      |
| 公開特許公報 (A)             | Laid-open Kokai Patent (A)                                  |
| (11) 【公開番号】            | (11)[KOKAI NUMBER]  |
| 特開平 9 - 1 2 4 6 5 2    | Unexamined Japanese Patent (1997-124652)<br>Heisei 9-124652 |
| (43) 【公開日】             | (43)[DATE OF FIRST PUBLICATION]                             |
| 平成 9 年 (1997) 5 月 13 日 | May 13, Heisei 9 (1997)                                     |
| (54) 【発明の名称】           | (54)[TITLE of the Invention]                                |
| ポルフィリン誘導体とその用途         | A porphyrins derivative and its application                 |
| (51) 【国際特許分類第 6 版】     | (51)[IPC Int. Cl. 6]  |
| C07D487/22             | C07D487/22  |
| A61K 31/40             | A61K 31/40  |
| 49/00                  | 49/00   |
| G01N 33/50             | G01N 33/50  |
| // A61N 5/06           | // A61N 5/06  |
| 【F I】                  | [FI]  |
| C07D487/22             | C07D487/22  |
| A61K 31/40             | A61K 31/40  |
| 49/00                  | 49/00   |
| G01N 33/50             | G01N 33/50  |
| T                      | A   |
| Z                      | Z   |
| A61N 5/06              | A61N 5/06   |
| E                      | E   |

【審査請求】 未請求

[REQUEST FOR EXAMINATION] No

【請求項の数】 3

[NUMBER OF CLAIMS] 3

【出願形態】 書面

[FORM of APPLICATION] Written

【全頁数】 9

[NUMBER OF PAGES] 9

(21) 【出願番号】

(21)[APPLICATION NUMBER]

特願平 7-315710

Japanese Patent Application (1995-315710)

Heisei 7-315710

(22) 【出願日】

(22)[DATE OF FILING]

平成 7 年 (1995) 10 月 3 (1995.10.30)

0 日

(71) 【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

[ID CODE]

5 9 1 2 7 3 4 3 2

591273432

【氏名又は名称】

[NAME OR APPELLATION]

東洋薄荷工業株式会社

K.K., Toyo Hakka Kogyo

【住所又は居所】

[ADDRESS or DOMICILE]

岡山県浅口郡里庄町大字浜中 7

5 番地の 1

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

[NAME OR APPELLATION]

阪田 功

Sakata Isao

【住所又は居所】 **[ADDRESS or DOMICILE]**

岡山県笠岡市小平井 1 7 6 6 番  
地の 4

(72) 【発明者】 **(72)[INVENTOR]**

【氏名】

中島 進

**[NAME OR APPELLATION]**

Nakajima Susumu

【住所又は居所】

北海道旭川市緑が丘 5 条 4 丁目  
4 番地の 3 4

**[ADDRESS or DOMICILE]**

(72) 【発明者】 **(72)[INVENTOR]**

【氏名】

小清水 弘一

**[NAME OR APPELLATION]**

Koshimizu Koichi

【住所又は居所】

奈良県奈良市法蓮山添西町 8 5  
6 番地の 1 0

**[ADDRESS or DOMICILE]**

(72) 【発明者】 **(72)[INVENTOR]**

【氏名】

高田 弘之

**[NAME OR APPELLATION]**

Takada Hiroyuki

【住所又は居所】

岡山県浅口郡里庄町里見 2 0 9  
8 番地

**[ADDRESS or DOMICILE]**

(72) 【発明者】 **(72)[INVENTOR]**

## 【氏名】

乾 裕史

## [NAME OR APPELLATION]

Inui Yasushi

## 【住所又は居所】

広島県福山市春日町浦上 779  
番地の 7

## [ADDRESS or DOMICILE]

## (74) 【代理人】

## (74)[AGENT]

## 【弁護士】

## 【氏名又は名称】

高橋 三郎

## [NAME OR APPELLATION]

Takahashi Saburo

## (57) 【要約】

## (57)[ABSTRACT of the Disclosure]

## 【目的】

本発明は、単一成分性、安定性、  
水溶性かつ特定の臓器特に癌へ  
の親和性に優れ、正常組織から  
の排出速度が速く光毒性を低減  
させることができ、しかもチタ  
ンサファイアレーザー (670  
nm 以上 600 nm 以下の波  
長) および半導体レーザー (6  
70 nm) の使用が可能である  
ポルフィリン誘導体を合成・探  
索し、光物理化学的診断治療 (P  
DT) に適した光増感剤を提供  
することを目的とする。

## [PURPOSE]

This invention aims at providing the following.  
It is excellent in single component property,  
stability, a water solubility, and the affinity to a  
specific organ, especially cancer, and the  
ejection speed from a normal tissue can be  
quick, and an optical toxicity can be reduced,  
and it compounds \* retrieves for the porphyrin  
derivative which can perform use of a titanium  
sapphire laser (wavelength of 670 nm or more  
and 600 nm or less), and semiconductor laser  
(670 nm), the photosensitizer appropriate to an  
optical physicochemical diagnostic treatment  
(PDT).

## 【構成】

## [CONSTITUTION]

本発明は、血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したアルデヒド基担持クロリン類に縮合させて得られたポルフィリン誘導体で構成される。

This invention consists of porphyrin derivatives which the aldehyde-group carrying chlorin which carried out the synthetic derivatization was made to condense, and were obtained from the protoporphyrin derived from the blood.

## 【特許請求の範囲】

## [CLAIMS]

## 【請求項 1】

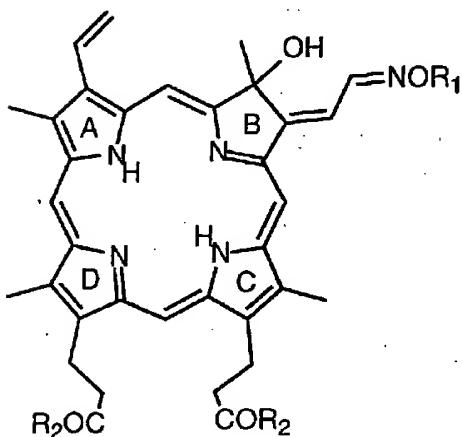
一般式 (I) 化1  
(式中、R<sub>1</sub>はCH<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>、R<sub>2</sub>はアスパラギン酸から水素を除いた残基) で示されるポルフィリン化合物。(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。)

## [CLAIM 1]

General formula (I) Compound 1  
(In the Formula, R<sub>1</sub> is CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, and CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, R<sub>2</sub> is the residue excluding hydrogen from aspartic acid.)  
The porphyrin compound shown above.  
(However, in the Formula, the position isomer which the functional group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included.)

## 【化1】

## [FORMULA 1]



## 【請求項 2】

請求項 1 記載のポルフィリン化合物からなる光物理化学的診断用および／または治療用増感剤。

## [CLAIM 2]

The object for an optical physicochemical diagnosis and/or the sensitizer for a treatment which are made of a porphyrins compound of Claim 1.

## 【請求項 3】

癌の診断および／または治療に使用される請求項 2 記載の光物理化学用増感剤。

## [CLAIM 3]

The sensitizer for optical physical chemistry of Claim 2 used for a diagnosis and/or treatment of cancer.

## 【発明の詳細な説明】

## [DETAILED DESCRIPTION of the INVENTION]

## 【0001】

## [0001]

## 【産業上の利用分野】

本発明は、ポルフィリン誘導体とその用途、特に新規なポルフィリン誘導体を有効成分とする光物理化学的診断用および治療用の増感剤および／または光物理化学による癌の診断および治療に用いる薬剤に関する。

## [INDUSTRIAL APPLICATION]

This invention relates to a porphyrin derivative, its application, the object for an optical physicochemical diagnosis which contains a new porphyrin derivative as an active ingredient especially and the sensitizer for a treatment, and/or the medicine used for the diagnosis and treatment of cancer by optical physical chemistry.

## 【0002】

## [0002]

## 【従来の技術】

癌の新しい治療法として光物理化学的診断治療（PDT）が行

## [PRIOR ART]

The optical physicochemical diagnostic treatment (PDT) is performed as a new cure for

われている。これはある種のボルフィリン化合物を静脈注射などの方法により投与し、癌組織に保持させた後、レーザー光を照射して癌組織のみを選択的に破壊するというものである。PDTは、ボルフィリンの癌組織に保持される時間が正常組織に比べて長いという性質と光増感作用を持つという2つの性質を利用している。過去15年間に世界中で5000人以上の人々がPDTによる悪性腫瘍の治療を受けており、癌治療法の1つとして定着しつつある。PDTにより良好な治療成績が報告されている癌種は、網膜癌、皮膚癌、食道癌、表在性膀胱癌、初期の肺癌など多岐に渡っている。

cancer. After this administering a porphyrin compound of a certain kind by methods, such as intravenous injection, and making it conserve it to a cancer tissue, it irradiates a laser light and destroys only a cancer tissue selectively. PDT utilizes two character of character in which the hour conserved at the cancer tissue of porphyrin is long compared with a normal tissue, and character to have a photosensitization effect. 5000 or more people were undergoing the treatment of the malignant tumor by PDT all over the world in past 15 years, it is fixed as one of the cancer cures. Retina cancer, skin cancer, an oesophageal cancer, a superficial bladder cancer, the lung cancer of an initial stage, etc. are going across the tumor type to which favorable treatment results are reported by PDT variably.

## 【0003】

現在PDTに使用されている薬剤は主としてヘマトボルフィリン誘導体（HPD）およびphotofrin II R (the ether object of HPD, and/or dimer of an ester).

(HPDのエーテル体および/またはエステル体の二量体)である。HPDはヘマトボルフィリンを酢酸中硫酸処理し、さら

に0.1N水酸化ナトリウムで処理して得られる混合物である。

また、photofrin II Rは1995年より日本で臨床応用されているが、HPDの疎水性の高い成分を主と

## [0003]

The medicines used for PDT now are mainly a hematoporphyrin derivative (HPD) and photofrin II R (the ether object of HPD, and/or dimer of an ester).

HPD is a mixture obtained by carrying out the sulfuric acid treatment in an acetic acid of the hematoporphyrin, and further processing by 0.1-N sodium hydroxide.

Moreover, the clinical application of photofrin II R is carried out from 1995 in Japan.

However, the component with the high hydrophobic nature of HPD is mainly included, with HPD, it is a complicated blend and an active ingredient is unknown.

して含んでおり、HPDとともに複雑な混合物であり活性成分が不明である。また成分比が一定でないために治療効果が極めて不安定である。

Moreover, since the component ratio is not fixed, a therapeutic effect is very unstable.

[0 0 0 4]

一方、PDTのための新しいポルフィリン誘導体が特開平1-246286号、昭63-145283号、昭62-2050082号、昭62-167783号、特開昭62-249986号、昭62-246580号、昭62-246579号および昭62-205081号に、そ

して J. F. Evensen ら  
により、[Br. J. Cancer,  
r. 55, 483 (1987)]  
に開示されている。また、クロ  
リン誘導体が特開平 1-250  
381号、昭63-29088  
1号、昭62-5986号、昭  
62-5985号、昭62-5  
924号、昭62-5912号、  
昭58-981号および昭57  
-185220号に、ポルフィ  
リングイア、誘導体が当国特許

リンダイマー誘導体が米国特許  
4 6 4 9 1 5 1 号 (1987)、  
特開昭62-63586号および昭60-500132号に、  
ポルフィリン金属錯体が特開平  
1-221382号、昭63-  
104987号および昭57-  
31688号に開示されてい  
る。ごく最近になって、670

[0004]

On the other hand, the new porphyrin derivative for PDT is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-246286, 63-145283, Showa 62 -205082, Showa 62 -167783, Unexamined-Japanese-Patent No. 62-249986, 62-246580, Showa 62 -246579, and Showa 62 -205081, and it is indicated by (Br.J.Cancer, 55,483 (1987)) by J.F.Evensen et al.

Moreover, a chlorin derivative is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-250381, 63-290881, Showa 62 -5986, Showa 62 -5985, Showa 62 -5924, Showa 62 -5912, Showa 58 -981, and Showa 57 -185220, a porphyrin dimer derivative is indicated by US Patent 4649151 (1987), Unexamined-Japanese-Patent No. 62-63586,60-500132, and the porphyrin metal complex is indicated at Unexamined-Japanese-Patent No. 1-221382, 63-104987, and Showa 57 -31688.

Porphyrin derivatives, such as meta- tetra hydroxyphenyl chlorin (m-THPC) which has absorption in vicinity 670 nm, and a benzo porphyrin derivative (BPD), have also very recently been developed.

We also examined many things, it is an open example about a chlorin derivative to Unexamined-Japanese-Patent No. 61-7279, 60-92287, the porphyrin metal

n m付近に吸収を持つメターテトラヒドロキシフェニルクロリン(m-T H P C)やベンゾポルフィリン誘導体(B P D)などのポルフィリン誘導体も開発されてきた。我々も種々検討し、クロリン誘導体を特開昭61-7279号および昭60-92287号に、ポルフィリン金属錯体を特開平2-1382280号、昭62-174079号、特公平4-24661号、平6-15545号および平7-25763号に、バクテリオクロリン誘導体を特開昭63-196586号に開示してきた。しかしながら、P D T用の増感剤として用いるには上記化合物では合成、安定性、水溶性の面において実用化が困難であった。そこで更に検討を行い、アルコキシポルフィリンアミノ酸誘導体およびクロリン誘導体を特開平5-97857号に開示し、P D T用の増感剤としての有効性を示したが、さらに高い治療効果の得られる誘導体が期待されている。

## 【0005】

またP D Tに使われるレーザー光の組織透過性の問題もある。H P Dやp h o t o f r i n I I ▲ R ▼は最大吸収波長が630 nmであり、モル吸光係数も3000と低い。630 nm

## [0005]

Moreover, there is also a problem of a tissue permeability of the laser light used for PDT. The maximum absorption wavelength of HPD or photofrin II R is 630 nm. The molar absorption coefficient is also as low as 3000.

の光では組織透過性が悪く、PDTの治療効果が5～10mmの表層癌に限定されてしまっている。

With the 630 nm light, a tissue permeability will be bad and will be limited to the surface-layer cancer which is 5 - 10 mm of therapeutic effects of PDT.

## 【0006】

一方レーザー装置の方にも問題がある。現在最もよく使用されている色素レーザーは安定性が悪く、運用上取扱いが難しい。チタンサファイアレーザーを用いれば運用がかなり簡単になる。しかしこのレーザーを用いると670 nm以上600 nm以下の吸収波長に限られ、630 nm付近の吸収波長を持つHPDやPtofrin II▲R▼には適用できない。最近、半導体レーザー(670 nm)も開発され670 nmに吸収を持つ化合物が有利とされてきた。

## [0006]

On the other hand, there is a problem also in a laser apparatus. The dye laser present most often used has bad stability, and the handling on implementation is difficult for it. If a titanium sapphire laser is used, implementation will become quite easily. However, if this laser is used, it will be restricted to the absorption wavelength of 670 nm or more and 600 nm or less, it is inapplicable to HPD and Ptofrin II R with the absorption wavelength near 630 nm. Recently, semiconductor laser (670 nm) is also developed and the compound which has absorption in 670 nm has been made advantageous.

## 【0007】

更に薬剤の副作用として一時的な光過敏症を引き起こすことが知られている。このため薬剤投与後、皮膚などの正常組織が光増感作用で破壊されないように患者を長期間暗所に閉じ込めておかなければならない。HPDおよびPtofrin II▲R▼は正常組織からの排出速度が遅いので長いときには6週間以上も光過敏症が残ることもある。現在使用されている薬剤は

## [0007]

Furthermore, causing an optical hypersensitivity temporary as a side effect of a medicine is known. For this reason, after a medicine administration, you have to confine a patient in a dark place for a long period of time so that it may not destroy normal tissues, such as the skin, in a photosensitization effect. Since the ejection speed from a normal tissue is slow, when long, as for HPD and Ptofrin II R, an optical anaphylaxis may remain six weeks or more.

こうした多くの問題点を抱えておりHPDおよびPhoto of r in II▲R▼に代わる新しい薬剤の開発が強く望まれて

いる。そこで上記薬剤が持つ欠点を克服するものとして单一化合物でありかつより長波長領域(650~800 nm)に吸収を持つ化合物が第2世代の薬物として提案されている。現在フタロシアニンなどのアザポルフィリン類、クロリン・バクテリオクロリンなどのポルフィリン類、テキサフィリンなどの環拡張型ポルフィリン類などさまざま

な化合物が研究されている。

The medicine used now is holding the trouble of such many, and development of the new medicine which replaces HPD and Photofrin II R is desired strongly.

Then, the compound which is a single compound and has absorption in a longer-wavelength range (650 - 800 nm) as what conquers the fault which the above-mentioned medicine has is proposed as a 2nd generation's medicine.

Various compounds, such as the aza porphyrin present, such as phthalocyanine, porphyrin, such as chlorin \* bacteriochlorin, and ring extension type porphyrin, such as a texaphyrin, are studied.

【0008】

[0008]

【発明が解決しようとする課題】

本発明者らは、単一成分であり安定かつ癌組織に対する良好な集積性を維持したまま、正常組織からは排出速度が速く光毒性を低減させ、しかもできうればチタンサファイアレーザー(670 nm以上600 nm以下の波長)ならびに半導体レーザー(670 nm)の使用が可能であるポルフィリン誘導体を探索し、PDTに適した光増感剤を提供することを目的として、種々の研究を重ねた。

[PROBLEM to be solved by the Invention]

The present inventors repeated various research for the purpose of providing the following.

It is a single component, and it is stable, and a normal tissue to ejection speed is quick, maintaining the favorable integration property with respect to a cancer tissue, and an optical toxicity is reduced.

And if it can do, it will retrieve for the porphyrin derivative which can perform use of a titanium sapphire laser (wavelength of 670 nm or more and 600 nm or less), and semiconductor laser (670 nm), the photosensitizer appropriate to PDT.

【0009】

[0009]

## 【問題を解決するための手段】

その結果、以前出願の誘導体(特開平5-97857号)の中で血液由来のプロトポルフィリンより合成誘導体化したクロリン類の側鎖に、ある種のイミノ基およびアスパラギン酸残基を結合させると、単一成分で癌組織に対して優れた集積性と正常組織より速やかな排出性を、更に670 nm以上の最長波長吸収端を持ち、かつ良好なPDT効果を有することを見出した。

## [MEANS to solve the Problem]

Consequently, when a certain kind of an imino group and an aspartic acid residue are combined with the side chain of the chlorin which carried out the synthetic derivatization from the protoporphyrin derived from the blood in the derivative (Unexamined-Japanese-Patent No. 5-97857) which applied before, of a single component, it has the longest wavelength absorption edge 670 nm or more for the integration property which was excellent to the cancer tissue, and exhaustibility more prompt than a normal tissue, and has the favorable PDT effect.

The above was discovered.

## 【0010】

また本発明者らは以前出願の誘導体(特開平5-97857号)と同様に、これらクロリン誘導体とアルブミンの混液の紫外線吸収(UV)スペクトルを分析したところ、スペクトルの動向が正の方向すなわち特定臓器、特に癌への親和性につながっていることが分かった。

## [0010]

Moreover, when the present inventors analyzed the ultraviolet-absorption (UV) spectrum of the mixed liquid of these chlorin derivative and albumin, like derivative (Unexamined-Japanese-Patent No. 5-97857) which applied before, it turned out that the trend of a spectrum leads to the affinity to a positive direction, i.e., a specific organ, especially cancer.

## 【0011】

一方、本発明者らは以前出願の誘導体(特願平4-276488号)と同様に薄層クロマトグラフィー(TLC)や高速液体クロマトグラフィー(HPLC)

## [0011]

On the other hand, when the present inventors evaluated these chlorin derivative by the photosensitization oxidation reaction using the group of a dansyl methionine substrate which can evaluate the reactive strength with respect

により光に対する反応性の強弱を簡便に評価できるダンシルメチオニン基質の系を用いる光増感酸化反応によりこれらクロリン誘導体を評価したところ、強い作用を持つことがわかった

to a light by thin layer chromatography (TLC) or the high performance liquid chromatography (HPLC) easily like the derivative (Japanese Patent Application No. 4-276488) which applied before, it found that it has a strong effect.

## 【0012】

本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、その要旨は

一般式 (I) 化1

(式中、R<sub>1</sub>はCH<sub>3</sub>、C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>、CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>、CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>、R<sub>2</sub>はアスパラギン酸から水素を除いた残基)で示されるポルフィリン化合物(但し、式中、4つのテトラピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む)を表わす。

## [0012]

This invention is perfected based on the above-mentioned findings, comprised such that the summary is, general formula (I)

Compound 1

(In the Formula, R<sub>1</sub> is CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, and CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>, r<sub>2</sub> is the residue excluding hydrogen from aspartic acid.)

The porphyrin compound shown above

(However, in the Formula, the position isomer which the functional group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included)

The above is expressed.

## 【0013】

本発明のポルフィリン化合物は、自体常套によって製造することができる。一般式 (I) に 対応するポルフィリン化合物にあっては、まずアルデヒド基を有する化合物に誘導体化し(工程a)、得られたクロリン誘導体にアスパラギン酸の残基を結合せしめる(工程b)、そして種々のヒドロキシルアミン誘導体を縮合させる(工程c)。また必ずしも工程 (b)、(c) は順次反

## [0013]

The porphyrins compound of this invention can be manufactured by itself conventionality.

With the porphyrin compound corresponding to general formula (I), a derivatization is carried out to the compound which has an aldehyde group first (process a), and various hydroxylamine derivative is combined the residue of aspartic acid and (process b) condensed to the obtained chlorin derivative (process c).

Moreover, it is not necessary to make process (b) and (c) not necessarily react in order.

応させる必要はなく (c)、(b) The order of a process may replace like (c) and のように工程順が代わっても良い (b)。

## 【0014】

構成工程 (a) は J. E. Falk 著 [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier 発行、1975年) および D. Dolphin 著 [The Porphyrins] (Academic Press 発行、1978年) 等に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。

## [0014]

Composition process (a) can perform this by the conventional method indicated by J.E.Falk work (Porphyrins and Metalloporphyrins) (Elsevier issue, 1975), D.Dolphin work (The Porphyrins) (Academic Press issue, 1978), etc.

## 【0015】

例えば (I) に対応する  $R_1$ 、 $R_2$  を有するポルフィリン化合物であるものは、特開昭61-7279号、特公昭63-13号、特公平6-1554号、特公平7-25763号、特開平2-138280号、特開平4-59779号、特開平5-97857号および特願平3-323597号に記載された方法に従ってこれを調製すれば良い。すなわちクロリン化工程 (a) についてはプロトポルフィリンジメチルエステル (以下 PP-Me と言う) を光化学反応処理して得られた 1-ヒドロキシ-2-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンジ

## [0015]

For example, what is the porphyrins compound which has  $R_1$  corresponding to (I) and  $R_2$  should just prepare this according to the method indicated by Unexamined-Japanese-Patent No. 61-7279, Japanese Patent Publication No. 63-13997, the Japanese Patent Publication No. 6-15545, 7-25763, Unexamined-Japanese-Patent No. 2-138280, 4-59779, 5-97857, and Japanese Patent Application No. 3-323597.

That is, about chlorin-ized process (a), the 1-hydroxy-2-formyl ethylidene-protoporphyrin dimethyl ester (henceforth P-Me) obtained by carrying out photochemical-reaction processing of the protoporphyrin dimethyl ester (henceforth PP-Me) is prepared.

(However, the 3-hydroxy-4-formyl ethylidene-protoporphyrin dimethyl ester which

メチルエステル（以下 P-Me と言う）を調製する（ただし、4つのテトラピロール環のうち A および B 環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった 3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル体も含む。）。

## 【0016】

次にアミノ酸の残基の結合工程 (b) に付す。すなわち、R<sub>2</sub> が水酸基であるポルフィリン化合物 (I) にアスパラギン酸を反応させて、R<sub>2</sub> がアスパラギン酸担持ポルフィリン化合物 (I) を製造する。このものは泉屋ら著 [ペプチド合成の基礎と実験] (丸善発行、1985年) 等に記載された常套の方法によってこれを行うことができ、特開昭64-61481号、特公平7-25763号、特開平2-138280号および特開平4-59779号に記載された方法に従ってこれを調製すればよい。

## 【0017】

この場合、要はポルフィリン化合物の側鎖にアスパラギン酸の残基を導入すればよいから、(I) の R<sub>2</sub> 側鎖のカルボキシル基とアスパラギン酸のアミノ基との間で反応を進行させることが好ましく、このため前者の

the functional group of the side chain of A and B ring replaced among four tetrapyrrol rings, respectively is also included.).

## [0016]

Next, joint process of the residue of an amino acid (b) is given.

That is, aspartic acid is made to react to the porphyrin compound (I) whose R<sub>2</sub> is a hydroxyl group, and R<sub>2</sub> manufactures an aspartic acid carrying porphyrin compound (I).

This thing can perform this by the conventional method indicated by Izumiua work (the foundation and experiment of peptide synthesis) (Maruzen issue, 1985) etc., what is sufficient is just to prepare this according to the method indicated by Unexamined-Japanese-Patent No. 64-61481, the Japanese Patent Publication No. 7-25763, Unexamined-Japanese-Patent No.

## [0017]

In this case, since what is sufficient is just to introduce the residue of the aspartic acid into the side chain of a porphyrins compound in short, it is desirable to advance a reaction between the carboxyl group of the R<sub>2</sub> side chain of (I) and the amino group of aspartic acid, for this reason, the former carboxyl group and/or

カルボキシル基および／または後者のアミノ基を常套の反応性基に変換したり、両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適宜に保護することが考慮されてよい。なお、いずれの場合も適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

the latter amino group are transformed into a conventional reactive group, it may consider protecting suitably the functional group participating in the reaction which exists in both is not desirable.

In addition, in any case, it may also consider use of a reaction accelerator like a dehydrating agent or a deoxidizer, or a condensing agent suitably.

## 【0018】

以上のようにして構成したクロリン化合物を縮合工程 (c) に付す。P-Me に、ヒドロキシルアミン誘導体を反応させて縮合体ポルフィリン化合物を製造する。このものは一般有機化学実験書中 [ヒドロキシルアミンとアルデヒド化合物との縮合反応] に記載された常套の方法によってこれを行うことができる。なお人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取してもよい。

## [0018]

The chlorin compound comprised as mentioned above is given to condensation process (c). A hydroxylamine derivative is made to react to P-Me, and a condensation-product porphyrins compound is manufactured.

This thing can perform this by the conventional method indicated by the general organic-chemistry experiment in the letter (condensing reaction of the hydroxylamine and an aldehyde compound).

In addition, instead of compounding artificially, it may collect this from a natural resource like a plant or an animal.

## 【0019】

以下、代表例を挙げてポルフィリン化合物 (I) の調製を更に具体的に説明する。例えば P-Me を加水分解して得られた 1-ヒドロキシ-2-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリン (以下 P と言う) を調製する(ただし、4 つのテトラピロール環のうち A および B 環の側鎖の官

## [0019]

Hereafter, a representative example is given and manufacture of a porphyrins compound (I) is still more specifically demonstrated.

For example, the 1-hydroxy- 2-formyl ethylidene-protoporphyrin (it is called Following P) which hydrolyzed P-Me and was obtained is prepared.

(However, 3-hydroxy -4- formyl ethylidene-protoporphyrin which the functional

能基がそれぞれ入れ替わった 3-ヒドロキシ-4-ホルミルエチリデン-プロトポルフィリンも含む。）。これに、アスパラギン酸 メチルエステル等を溶媒中で縮合剤〔例えばジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC) や水溶性カルボジイミド(WSC)〕等を用いて反応せしめて、R<sub>2</sub>の側鎖にアスパラギン酸残基が結合したポルフィリン化合物(I)を得る。次いで、ヒドロキシルアミン誘導体〔例えばO-メチルヒドロキシルアミン、O-エチルヒドロキシルアミン、O-ベンジルヒドロキシルアミン等〕を溶媒中で縮合剤〔例えばピリジン、ピペリジン、酸、アルカリ等〕を用いて反応せしめて、R<sub>1</sub>の側鎖にこれらの中の化合物が縮合したポルフィリン化合物(I)を得る。その具体例としては以下のものを挙げることができる。

## 【0020】

(1) 13、17-ビスプロピオニルアスパラギン酸-3-エチニル-7-ヒドロキシ-8-メトキシイミノエチリデン-2、7、12、18-テトラメチルポルフィン (以下NOMe-P-diAspとす)

(2) 13、17-ビスプロピオニルアスパラギン酸-3-エチニル-7-ヒドロキシ-8-メトキシイミノエチリデン-2、7、12、18-テトラメチルポルフィン (以下NOEt-P-diAsp)

## [0020]

(1) 13, 17-bis propionyl aspartic acid -3-Ethenyl- 7-hydroxy- 8-methoxyimino- ethylidene -2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOMe-P-diAsp)

(2) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl- 7-hydroxy- 8-ethoxy imino ethylidene -2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOEt-P-diAsp)

(3) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl- 7-hydroxy- 8-isobutoxy imino ethylidene

エトキシイミノエチリデン-2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOIsoBu-P-diAsp)

チルーポルフィン (以下NOEt-P-diAspと言う) (4) 13 17-bis propionyl aspartic acid -3- ethenyl -7- hydroxy -8- benzyl oximino ethylidene (3) 13, 17-bispropiophenyl-2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAsp)

テニル-7-ヒドロキシ-8-イソブトキシイミノエチリデン (5) 13 17-bis propionyl aspartic-acid -3- ethenyl-7-hydroxy-8-pentafluoro benzyl oximino -2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>-P-diAsp)

メチルーポルフィン (以下NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAspと言う)

(4) 13, 17-bispropiophenyl-2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAspと言う)

(5) 13, 17-bispropiophenyl-2,7,12,18-tetramethyl-porphine (henceforth NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>-P-diAspと言う)

## 【0021】

本発明によるポルフィリン誘導体の医薬品製剤の製造は自体公知法により行われ、本発明による誘導体を適当な緩衝液で溶解するだけでよい。好適な添加物として例えば医薬的に認容でき

## [0021]

Manufacture of the pharmaceutical formulation of the porphyrins derivative by this invention is performed by the itself publicizing method, what is sufficient is just to dissolve the derivative by this invention with suitable buffer.

The solubilizing agent (for example, organic

る溶解補助剤（例えば有機溶媒）、pH調製剤（例えば酸、塩基、緩衝液）、安定剤（例えばアスコルビン酸）、賦形剤（例えばグルコース）、等張化剤（例えば塩化ナトリウム）などが配合されても良い。

solvent) which uses as a suitable additive, for example, can be admitted in pharmaceutical, pH manufacture medicine (for example, an acid, a base, buffer), a stabilizer (for example, ascorbic acid), the excipient (for example, glucose), an isotonizing agent (for example, sodium chloride), etc. may be mixed.

### 【0022】

本発明による薬剤はPDT用薬剤としての必要十分な特性すなわち長燐光寿命、アルブミンに対する親和性、特定臓器特に癌に対する特異的集積性、ダンシルメチオニン評価による光殺細胞効果、吸収波長、水溶性、純度などを充分満足しているものである。本発明による薬剤の良好な水溶性は、高濃度溶液（50 mg / ml）の製造を可能とし、更に本発明による薬剤は試験管内だけでなく生体内でも高い安定性を示す。一般に、PDT用薬剤として適用するために本発明の薬剤を1 mg ~ 5 mg / kg 体重の量で投与するのが望ましい。

### [0022]

The medicine by this invention satisfies enough property sufficient as a medicine for PDT, i.e., long phosphor life span, the affinity with respect to albumin, a specific organ especially the specific integration property with respect to cancer, the optical cytoidal effect by dansyl methionine evaluation, an absorption wavelength, water-soluble, purity, etc.

The favorable water solubility of the medicine by this invention enables manufacture of a high concentration solution (50 mg/ml), furthermore, the medicine by this invention shows high stability not only for the inside of a test tube but for an in vivo.

Generally, in order to use as a medicine for PDT, it is desirable to administer the medicine of this invention by the amount of a 1 mg - 5 mg/kg body weight.

### 【0023】

### [0023]

#### 【作用】

本発明にかかるポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖にアミノ酸残基、またはアルデヒド縮合体を有する点に化学

#### [OPERATION]

The porphyrins compound concerning this invention has the characteristics on a chemical structure at the point of view of having an amino acid residue or an aldehyde condensation

構造上の特徴を有し、その結果種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

product in the side chain of a porphyrins skeleton, as a result, various physiological or pharmacological characteristics are demonstrated.

## 【0024】

これらポルフィリン誘導体は癌細胞に選択的に集積し、かつ癌細胞からの排泄が遅い。なお、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはない。元来、ポルフィリン誘導体の殆んどのものは光に対して強い作用を有するが、本発明に従ってポルフィリン誘導体の側鎖に多官能性化合物残基を導入することによって正常組織からの排泄性を高めるとともに、光毒性の発現を極力抑制するようデザインした誘導体が可能となった。また、ポルフィリンをクロリン誘導体化して波長がレッドシフトすることにより治療効果の深達度をはかることができた。これらの特性（癌親和性、光殺細胞効果、吸収波長、水溶性）に基づき、本発明のポルフィリン誘導体は特定の臓器、特に癌や悪性腫瘍に対するPDT薬剤として有用である。

## [0024]

These porphyrins derivative is selectively integrated to a cancer cell, and the excretion from a cancer cell is slow.

In addition, from a normal organ or the cell, since it is excreted promptly, damage is not done to them.

Originally, the almost all of a porphyrins derivative has a strong effect to a light.

However, while raising the excretion property from a normal tissue by transducing a polyfunctional compound residue into the side chain of a porphyrin derivative according to this invention, the derivative designed so that an expression of an optical toxicity might be suppressed as much as possible was made.

Moreover, when the chlorin derivatization of the porphyrins was carried out and a wavelength carried out a red shift, the degree of reaching depth of a therapeutic effect was able to be measured.

Based on these properties (cancer affinity, an optical cytoidal effect, an absorption wavelength, water solubility), the porphyrin derivative of this invention is useful as a PDT medicine with respect to a specific organ especially cancer, or a malignant.

## 【0025】

以下実施例を挙げて説明する。なお、実施例での収率はすべて

## [0025]

An Example is given and demonstrated below.

In addition, all the yields in an Example are the

出発原料である PP-Me から values converted and calculated from PP-Me  
換算して求めた値である。 which is a starting material.

【0026】

[0026]

## 【実施例】

実施例 1

Pの合成

R. K. D i n e l l o らの方  
法 [The Porphyrins, Academic Press  
issue, Vol.1, 303 (1978)] に準じて合成し  
た。 PP-Me 100g をクロ

ロホルム 10l に溶解し、光照射下  
一週間反応させた。(ポルフ  
ィリンからクロリン誘導体化)

反応後減圧濃縮し、残渣を得た。  
得られた残渣をシリカゲルカラ  
ムクロマトグラフィー (溶離  
液: n-ヘキサン-クロロホル  
ム) にて精製して、P-Me を  
得た。(50.0g) 続いて、こ  
れをピリジン・メタノール混液  
中で加水分解して暗緑色結晶の  
Pを得た。(43.0g、収率 4  
2.7%)

## [EXAMPLES]

Example 1

A synthesis of P

It compounded according to R.K. Dinello et al.  
method (The Porphyrins, Academic Press  
issue, Vol.1, 303 (1978)).

PP-Me 100g was dissolved in chloroform 10l.,  
and it was made to react for one week under  
photoirradiation:

(From the porphyrins to a chlorin derivatization)

It evaporated after the reaction and the residue  
was obtained.

The obtained residue was refined in silica-gel  
column-chromatography - (eluting solvent:  
n-hexane-chloroform), and P-Me was obtained.  
(50.0g)

Then, this was hydrolyzed in the pyridine \*  
methanol mixed liquid, and P of dark green  
crystallization was obtained.

(43.0g, 42.7 % of yields)

【0027】

実施例 2

ポルフィリンのアスパラギン酸  
誘導体化

実施例 1 で得た P 2g をテトラ  
ヒドロフランに溶解しジシクロ  
ヘキシルアミン (DCHA) に

[0027]

Example 2

The aspartic-acid derivatization of the  
porphyrins

P 2g obtained in Example 1 was dissolved in  
tetrahydrofuran, and it considered as P-DCHA  
salt (2.0g) by the conventional method in the

て常法により P-DCHA 塩 dicyclohexylamine (DCHA). (2.0 g) とした。本 DCHA 塩をクロロホルム 150 ml に溶解し、アスパラギン酸ジメチルエステル (AspMe) 塩酸塩 2 g を加え、攪拌下に水溶性カルボジイミド (WSC) 2 g を徐々に加えて 1.5 時間反応せしめた。反応後 (TLC にて反応終末点を確認)、反応液を水洗分液後、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-エーテル-n-ヘキサンにて再沈殿および再結晶化を繰り返し行い、暗緑色結晶のフォトプロトポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸テトラメチルエステル (以下 P-AspMe と言う)を得た。 (1.2 g, 17.3 % of yields) (1.2 g, 収率 17.3 %)

This DCHA salt is dissolved in chloroform 150 ml, 2g of aspartic acid dimethyl ester (AspMe) hydrochloride was added, water-soluble carbodiimide (WSC) 2g was added gradually while stirring, and it was made to react for 1.5 hours. The chloroform layer was evaporated after water-washing liquid separation for the reaction mixture after reaction (the reaction termination point of view was checked in TLC). Reprecipitation and a recrystallization are performed repeatedly in an ethyl acetate-ether-n-hexane for the obtained concentrate, photo proto finyl-6 of a dark green crystal and 7-bis aspartic acid tetramethyl ester (henceforth P-AspMe) were obtained.

## 【0028】

実施例 3

NOMe-P-diAsp(1)

の合成

実施例 2 で得られた P-Asp

Me 500 mg をピリジン 20 ml に溶解し室温攪拌下に O- メチルヒドロキシルアミン塩酸

塩 150 mg を添加、30 分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮

した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリ

## [0028]

Example 3

A synthesis of NOMe-P-diAsp(1)

P-AspMe 500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, it added and 150 mg of bottom O- methyl hydroxylamine hydrochlorides of room-temperature stirring was made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in

ジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加え pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.  
 加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の NO<sub>2</sub>-P-diAsp(1) of dark green crystallization Me-P-diAsp (1) を得た。(390 mg, 13.9%) (390 mg, 13.9%)

## 【0029】

実施例 4

NOEt-P-diAsp(2)

の合成

実施例 2 で得られた P-Aasp Me 500 mg をピリジン 20 ml に溶解し、室温攪拌下に O-

-エチルヒドロキシルアミン塩酸塩 150 mg を添加、30 分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃

縮した。得られた濃縮物を酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸化ナトリウム 10 ml を加

え加水分解を行った。1 N 塩酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃

縮した。濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の NOEt-P-diAsp(2) を得た。(420 mg, 14.8%)

## [0029]

Example 4

A synthesis of NOEt-P-diAsp(2)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-ethyl hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.

It liquid-separates under chloroform after neutralization by 1-N hydrochloric acid, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol- ethyl acetate-n- hexane and NOEt-P-diAsp(2) of dark green crystallization was obtained.

8 %)

**[0030]**

実施例 5

NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp

p (3) の合成

実施例 2 で得られた P-Asp

Me 500 mg をピリジン 20

ml に溶解し、室温攪拌下に O

ーイソブチルヒドロキシルアミ

ン塩酸塩 150 mg を添加、3

0 分間反応せしめた。反応後、

反応液にクロロホルムを加え、

水洗分液後クロロホルム層を減

圧濃縮した。得られた濃縮物を

酢酸エチル-n-ヘキサンにて

再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥

後、ピリジン 10 ml に溶解し、

1 N 水酸化ナトリウム 10 ml

を加え加水分解を行った。1 N

塩酸で中和後、クロロホルムに

て分液し、クロロホルム層を減

圧濃縮した。濃縮物をメタノ

ール-酢酸エチル-n-ヘキサン

にて再沈殿を行い、暗緑色結晶

の NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp

s p (3) を得た。(450 mg、

15.3 %)

**[0030]**

Example 5

A synthesis of NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp(3)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-isobutyl hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to react for 30 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of 1-N sodium hydroxide.

It liquid-separates under chloroform after neutralization by 1-N hydrochloric acid, the chloroform layer was evaporated.

The concentrate was reprecipitated in the methanol- ethyl acetate-n- hexane and NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp(3) of dark green crystallization was obtained.

**[0031]**

実施例 6 NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-

P-diAsp (4) の合成

実施例 2 で得られた P-Asp

Me 500 mg をピリジン 20

ml に溶解し、室温攪拌下に O

ーベンジルヒドロキシルアミン

**[0031]**

Example

A synthesis of 6NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-P-diAsp(4)

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-benzyl hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to

塩酸塩 1.50 mg を添加、60 react for 60 minutes.

分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物を酢Chloroform was added to the reaction mixture after reaction, and the chloroform layer after water-washing liquid separation was evaporated.

酸エチル-*n*-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン10mlに溶解し、1N水酸化ナトリウム10mlを加え加水分解を行った。1N塩

酸で中和後、クロロホルムにて分液し、クロロホルム層を減圧濃縮した。濃縮物をメタノール

一酢酸エチル-*n*-ヘキサンにて再沈殿を行い、暗緑色結晶の  $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5-\text{P}-\text{dAsp(4)}$  s p (4)を得た。(400 mg, crystallization was obtained.

13.1 %) (400 mg, 13.1 %)

[0 0 3 2]

### 実施例 7

### N O C H<sub>2</sub> C<sub>6</sub> F<sub>5</sub> - P - d i A s p (5) の合成

実施例2で得られたP-A s p  
Me 500mgをピリジン20  
mlに溶解し、室温攪拌下にO  
- (ペンタフルオロベンジル)  
ヒドロキシリアミン塩酸塩1.5

0 mg を添加、120分間反応せしめた。反応後、反応液にクロロホルムを加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮し

た。得られた濃縮物を酢酸エチル-*n*-ヘキサンにて再沈殿を行い沈殿を濾取乾燥後、ピリジン 10 ml に溶解し、1 N 水酸

[0032]

### Example 7

### A synthesis of $\text{NOCH}_2\text{C}_6\text{F}_5\text{-P-diAsp(5)}$

P-AspMe500 mg obtained in Example 2 is dissolved in pyridine 20 ml, 150 mg of O-(pentafluoro benzyl) hydroxylamine hydrochlorides was added under room-temperature stirring, and it was made to react for 120 minutes.

Chloroform was added to the reaction mixture after the reaction, and the chloroform layer was evaporated. after water-washing liquid separation.

After reprecipitating the obtained concentrate in an ethyl acetate-n-hexane and carrying out the filtering drying of the precipitate, it dissolves in pyridine 10 ml, it hydrolyzed by adding 10 ml of

化ナトリウム 1.0 m l を加え加  
水分解を行った。1N 塩酸で中  
和後、クロロホルムにて分液し、  
クロロホルム層を減圧濃縮し  
た。濃縮物をメタノール-酢酸  
エチル- n-ヘキサンにて再沈  
殿を行い、暗緑色結晶の NOC  
 $H_2C_6F_5-P-diAsp$ を得た。  
(5)を得た。(390 mg, 11.7 %)  
1. 7 %)

1-N sodium hydroxide.  
It liquid-separates under chloroform after  
neutralization by 1-N hydrochloric acid, the  
chloroform layer was evaporated.  
The concentrate was reprecipitated in the  
methanol- ethyl acetate-n- hexane and  
NOCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>-P-diAsp(5) of dark green  
crystallization was obtained.

## 【0033】

実施例 8

摘出器官でのレーザー照射 (励  
起蛍光スペクトル)

ニトロソアミン発癌の胰癌細胞  
を移植した 14 ~ 21 日目のゴ  
ールデンハムスター (1 群五匹)  
にリン酸緩衝液 (1 m l) にて  
希釈した 5 mg の被験薬剤 NO  
Me-P-diAsp (1) を  
静注後、癌を含む各臓器を摘出  
し、得られた各器官に N<sub>2</sub>-p  
ulse laser (N<sub>2</sub>、  
337 nm, 2 ns, 400 ~  
1000 nm) を照射、励起蛍  
光スペクトルを測定し、470  
nm の NADH のピーク波長を

基準として 600 ~ 900 nm  
の波長を検討した。(N<sub>2</sub>-PL  
S 測定) 以下同様にして得られ  
た結果 (癌/各臓器 比) を表  
1 に示す。表 1 は薬剤投与 3 時  
間後に摘出した各器官の各励起  
蛍光スペクトルを測定し、470  
nm のピーク波長を基準 1 と

## [0033]

Example 8

Laser irradiation by the extractor official  
(excitation fluorescence spectrum)

After carrying out the intravenous administration  
of 5 mg test-drug medicine NOMe-P-diAsp(1)  
which diluted with phosphoric acid buffer (1 ml)  
to the 14-21 day golden hamster (1 group 5  
animal) which transplanted the pancreatic  
cancer cell of a nitrosamine oncogenesis, each  
organ including cancer is extracted, it irradiated  
to each obtained organ for N<sub>2</sub>-pulsed laser(N<sub>2</sub>,  
337 nm, 2ns and 400 - 1000 nm, an excitation  
fluorescence spectrum is measured, the  
wavelength of 600 - 900 nm was examined on  
the basis of the peak wavelength of 470 nm  
NADH.

(N<sub>2</sub>-PLS measurement)

The result (cancer / each organ ratio)  
obtained like the following is shown to Table 1.  
Table 1 shows the value which measured each  
excitation fluorescence spectrum of each organ  
extracted 3 hours after the medicine  
administration, and computed the peak  
wavelength in 600 - 900 nm by making the peak

して 600～900 nm のビーグル wavelength of 470 nm into a reference standard ーク波長を算出した値を示す。 1.

【0034】

[0034]

【表1】

[TABLE 1]

| 化 合 物 名  | 癌/臓器 |      |      |      |
|--|------|------|------|------|
|  | 癌/肝  | 癌/肺  | 癌/腎  | 癌/血清 |
| (1) NO <sub>2</sub> Me-P-diAsp                               | 0.16 | 0.91 | 0.25 | 1.07 |
| (2) NOEt-P-diAsp   | 1.16 | -    | 6.70 | 0.32 |
| (4) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -P-diAsp | 1.84 | 17.0 | 34.0 | 5.40 |
| (5) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> -P-diAsp | 2.80 | 14.0 | 2.80 | 0.07 |

Compound name

Cancer/organ:

Cancer/liver

Cancer/lungs

Cancer/kidney

Cancer/blood serum

【0035】

[0035]

実施例 9

Example 9

ダンシルメチオニンを用いる光  
増感酸化反応の評価

Evaluation of the photosensitization oxidation  
reaction using the dansyl methionine

基質(ダンシルメチオニン) 1  
0 μMをクロロホルム 1 ml に  
溶解し、前記実施例で得られた  
増感剤 0.1 μMを加え、攪拌

Substrate (dansyl methionine) 10 micro-M is  
dissolved in chloroform 1 ml, sensitizer 0.1  
micro-M obtained in said Example was added,  
and it irradiated while stirring by Cold Spot

下にCold Spot PI PICL-SX (Nippon P.I.Co.Ltd.) (halogen lamp, CL-SX (Nippon P. 150W, 80,000Lux).

I. Co.. Ltd.) (ハロゲンランプ、150W、80,000Lux) で照射した。光照射1分毎に反応液をTLC板 (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) にスポットし、クロロホルム-メタノール (3:2) で展開後、UVランプ (254 nm) でダンシルメチオニンとその酸化生成物 (ダンシルメチオニンスルホキシド) を確認した。TLC板上でダンシルメチオニンが完全に消失した時間を反応終了時間とし、各増感剤の光酸化反応の強弱を比較検討した。その結果を図1および表2に示す。なお、図1中縦軸はR<sub>f</sub>を横軸は時間 (分) を示し、R<sub>f</sub>値0.79はダンシルメチオニン、0.43はダンシルメチオニンスルホキシドのスポットである。また、表2の数値は反応完了時間を分で示し、この値 (分) が小さければ小さいほど光酸化反応が強いことを意味する。

PICL-SX (Nippon P.I.Co.Ltd.) (halogen lamp, CL-SX (Nippon P. 150W, 80,000Lux).

The spot of the reaction mixture is carried out to TLC board (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) for every photoirradiation minute, after developing with chloroform-methanol (3:2), dansyl methionine and its oxidation product (dansyl methionine sulfoxide) were confirmed with UV lamp (254 nm).

Let the hour which dansyl methionine lost completely on the TLC board be a reaction completion hour, comparison examination of the strength of the photooxidation reaction of each sensitizer was carried out.

The result is shown to FIG. 1 and Table 2.

In addition, the ordinate in FIG. 1 shows R<sub>f</sub> and a horizontal axis shows a time (minutes), R<sub>f</sub> value 0.79 is the dansyl methionine and 0.43 is the spot of a dansyl methionine sulfoxide.

Moreover, the numerical value of Table 2 shows the finalization hour of a reaction by minutes, it means that photooxidation reaction is stronger as this value (minutes) is smaller.

【0036】

[0036]

【表2】

[TABLE 2]

| 化 合 物 名  | 光反応の強さ |
|--|--------|
| Photofrin II®  | 10 <   |
| (1) NO <sub>2</sub> Me-P-diAsp                               | 4      |
| (2) NOEt-P-diAsp   | 4      |
| (3) NO <sub>2</sub> isoBu-P-diAsp                            | 4      |
| (4) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -P-diAsp | 4      |
| (5) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> -P-diAsp | 4      |

Compound name      Strength of the photoreaction

【0037】

実施例 10

紫外線吸収スペクトル分析 (アルブミンテスト)

ポルフィリン化合物はアルブミン溶液中で、二単量体あるいは多量体を形成することが知られている。

この性質はアルブミン濃度を種々変えて分析を行うことで極大吸収値の移動または吸光係数の変動がみられることが判る。したがって癌細胞との親和性を検討するには簡単なスクリーニングテストである。

アルブミン 54 mg を 3 ml の生理食塩水に溶解し、1.8% 濃度とする。次いでこれを 10 倍希釈して 0.18% とした液を公比 3 で希釈して各アルブミン濃度 (1.8, 0.18, 0.06, 0.02, 0.0066, 0.0022%) の液を調製した。

一方、ポルフィリン誘導体 1 mg をリン酸緩衝液 (pH 8.0) に溶解し、1 ml に希釈して各濃度 (1.0, 0.1, 0.01, 0.001 mg/ml) の液を得た。

[0037]

Example 10

Ultraviolet-absorption spectrum analysis (albumin test)

It is known that a porphyrins compound will form two monomers or a polymer in an albumin solution. This character can be understood by the transfer of a maximum absorption value or fluctuation of an absorbancy index being seen by analyzing by changing various albumin concentration.

Therefore, in order to examine affinity with a cancer cell, it is the simple screening test.

Albumin 54 mg is dissolved in the 3 ml physiological saline, and it may be 1.8 % concentration.

Subsequently, the liquid which this was diluted 10 times and made into 0.18 % was diluted by the common ratio 3, and the liquid of each albumin concentration (1.8, 0.18, 0.06, 0.02, 0.0066, 0.0022 %) was prepared.

On the other hand, 1 mg of porphyrins derivatives is dissolved in 1 ml (pH8.0) of

0) 1 ml に溶解し、生理食塩水で 100 ml にした。そしてアルブミン希釈液 2 ml とポルフィリン溶液 2 ml を混合し、混液のアルブミン最終濃度を 0.9、0.09、0.03、0.01、0.0033、0.0011 % とし紫外線吸収スペクトル測定 (350~900 nm) を行った。またアルブミン希釈液のかわりに生理食塩水およびメタノール溶液中でも同様に測定した。これらの測定結果を表 3 に示す。その代表例として、NOMe-P-diAsp の紫外線吸収スペクトルを図 2 および図 3 に示す。

phosphoric-acid buffer, it was made 100 ml with the physiological saline. And 2 ml of albumin dilution liquid and 2 ml of porphyrins solutions are mixed, the albumin final concentration of a mixed liquid was made into 0.9, 0.09, 0.03, 0.01, 0.0033, and 0.0011 %, and the ultraviolet-absorption spectrum was measured (350 - 900 nm). Moreover, it measured similarly in the physiological saline and a methanol solution instead of albumin dilution liquid. These measurement\_results are shown to Table 3.

As the representative example, the ultraviolet-absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1) is shown to FIG. 2 and FIG. 3.

【0038】

[0038]

【表 3】

[TABLE 3]

| 化合物名   | 波長 (nm)   |       |               |
|--|-----------|-------|---------------|
|  | 生理<br>食塩水 | メタノール | 0.9%ア<br>ルブミン |
| (1) NOMe-P-diAsp   | 665       | 667   | 670           |
| (2) NOEt-P-diAsp   | 665       | 667   | 670           |
| (3) NOisoBu-P-<br>diAsp  | 665       | 667   | 670           |
| (4) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -P-<br>diAsp | 666       | 667   | 670           |
| (5) NOCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> F <sub>5</sub> -P-<br>diAsp | 666       | 666   | 670           |

Compound name

Wavelength (nm)

Physiological saline

Methanol

0.9% Albumin

## 【0039】

実施例 11

赤外吸収スペクトル分析

赤外分光光度計により KBr 錠剤法にて本誘導体の赤外吸収スペクトルを測定した。その代表例として、NOEt-P-diAsp(2) の赤外吸収スペクトルを図4に示す。

## [0039]

Example 11

Infrared-absorption-spectrum analysis

The infrared absorption spectrum of this derivative was measured in the KBr tablet method with the infrared spectrophotometer. As the representative example, the infrared absorption spectrum of NOEt-P-diAsp(2) is shown in FIG. 4.

## 【0040】

## [0040]

## 【発明の効果】

## [ADVANTAGE of the Invention]

本発明のポルフィリン誘導体は癌細胞への集積性、外部エネルギーに対する反応性ならびに癌細胞の破壊作用を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現することができないから、癌治療薬あるいは癌診断薬として究めて有用である。

The porphyrins derivative of this invention has the integration property to a cancer cell, the reactivity with respect to an external energy, and a destruction effect of a cancer cell, and since a toxicity is not expressed to a normal cell, it is very useful as the cancer therapeutic agent or a cancer diagnostic.

【図面の簡単な説明】

[BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS]

【図 1】

NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp(3)テトラメチルエステルを増感剤として用いた薄層クロマトグラムを示す図である。

[FIG. 1]

It is the figure which shows the thin-layer chromatogram using NO<sub>2</sub>isoBu-P-diAsp(3) tetramethyl ester as a sensitizer.

【図 2】

NOMe-P-diAsp(1)の紫外吸収スペクトルを示す図である。

[FIG. 2]

It is the figure which shows the ultraviolet absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1).

【図 3】

NOMe-P-diAsp(1)の紫外吸収スペクトルを示す図である。

[FIG. 3]

It is the figure which shows the ultraviolet absorption spectrum of NOMe-P-diAsp(1).

【図 4】

NOEt-P-diAsp(2)の赤外吸収スペクトルを示す図である。

[FIG. 4]

It is the figure which shows the infrared absorption spectrum of NOEt-P-diAsp(2).

【符号の説明】

[Description of Symbols]

1 ポルフィリン溶液と生理食塩水の混液（アルブミン濃度

1 Mixed liquid of porphyrin solution and physiological saline (0 % of albumin

0 %) concentration)

2 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.0011 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.0011 % of albumin concentration)

3 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.0033 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.0033 % of albumin concentration)

4 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.01 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.01 % of albumin concentration)

5 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.03 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.03 % of albumin concentration)

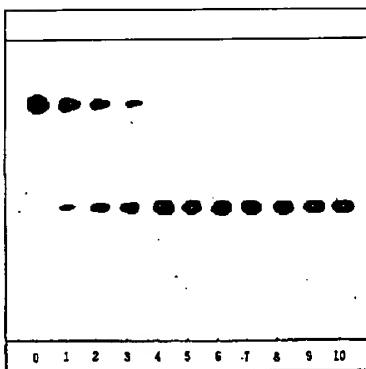
6 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.09 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.09 % of albumin concentration)

7 ポルフィリン溶液とアルブミン溶液の混液 (アルブミン濃度 0.9 %) Mixed liquid of porphyrins solution and albumin solution (0.9 % of albumin concentration)

8 ポルフィリン溶液とメタノールの混液 Mixed liquid of porphyrin solution and methanol

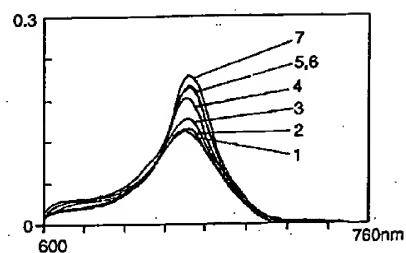
【図1】

[FIG. 1]



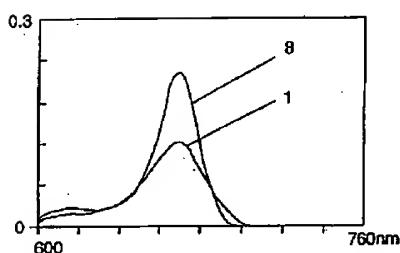
【図 2】

[FIG. 2]



【図 3】

[FIG. 3]

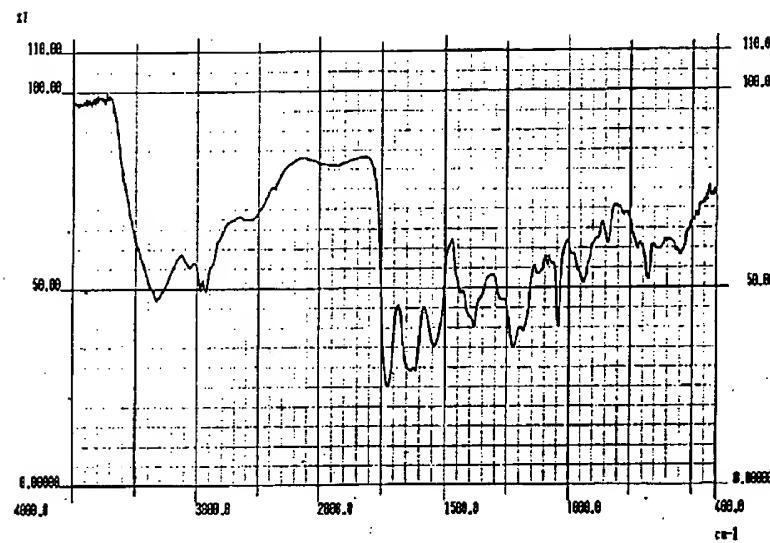


【図 4】

[FIG. 4]

JP9-124652-A

THOMSON  
DERWENT™



## DERWENT TERMS AND CONDITIONS

*Derwent shall not in any circumstances be liable or responsible for the completeness or accuracy of any Derwent translation and will not be liable for any direct, indirect, consequential or economic loss or loss of profit resulting directly or indirectly from the use of any translation by any customer.*

Derwent Information Ltd. is part of The Thomson Corporation

Please visit our home page:

"WWW.DERWENT.CO.UK" (English)

"WWW.DERWENT.CO.JP" (Japanese)